Iranian Journal of Animal Science Research
Vol. 11, No. 4, Winter 2020, p. 481-487

نشریه پژوهشهای علوم دامی ایران
جلد 11، شماره 4، زمستان 1398، ص. 487-481

بررسی تنوع ژنتیکی در جمعیت اسب‌های عرب ایرانی

سروین جباری[1] ، محمدرضا مشایخی[2*] ، علی حسن پور[3]، بهزاد شیرمحمدلی[4]

تاریخ دریافت : 1397/02/22
تاریخ پذیرش: 1397/10/15

چکیده

اسب حیوانی است که در طول تاریخ همواره کنار انسان بوده و در تشکیل تمدن بشری نقش مهمی داشته است. نژادهای متنوعی از این حیوان در سراسر جهان وجود دارد که ازلحاظ ظاهری با یکدیگر تفاوت دارند. امروزه پژوهشگران از نشانگرهای مولکولی مانند STR های معرفی‌شده از سوی انجمن ژنتیک حیوانات، جهت مطالعات ژنتیکی و تعیین اصل و نسب استفاده می‌کنند که می‌توانند خطاها را به حداقل برساند. در این مطالعه، تنوع ژنتیکی 50 راس اسب نژاد عرب موردبررسی قرار گرفت. برای این منظور از نشانگرهای ریزماهواره پیشنهادی ISAG استفاده شد. این نشانگرها شامل ریز ماهواره‌هایASB17 ، LEX3، HMS1، CA425 می‌باشند. این جایگاه‌ها توسط روش مولتی‌پلکس PCR با چهار جفت پرایمر نشان‌دار به رنگ فلورسانس تکثیر شدند. سپس اندازه محصولات حاصل از PCR توسط الکتروفورز مویینه جداسازی و موردبررسی قرار گرفتند. پس از آنالیز داده‌ها، نتایج نشان داد که تعداد آلل‌های مشاهده‌شده برای هر جایگاه از 5 تا 9 آلل متغیر بود. بیشترین تعداد آلل مربوط به نشانگر LEX3 با 9 آلل بود و بیشترین مقدار هتروزیگوسیتی را نشانگر ASB17 دارا بود. جایگاه CA425 دارای 5 آلل بود که کمترین تعداد آلل در میان جایگاه‌های بررسی‌شده را داشت و جایگاهLEX3 دارای پایین‌ترین مقدار هتروزیگوسیتی بود. همچنین بیشترین مقدار PIC و نیز شاخص شانون برای جایگاه LEX3 و کمترین مقدار برای جایگاه CA425 مشاهده شد. نتایج حاصل از این مطالعه نشان‌داد که تنوع ژنتیکی جمعیت اسب‌های عرب، فراوانی بسیار بالایی در مقایسه با سایر نژادهای اسب دارد.

واژه‌های کلیدی: اسب عرب، تنوع ژنتیکی، مولتی‌پلکس PCR، STR

مقدمه

اسب جانوری است از شاخه مهره داران، رده پستانداران، راسته تک سمیان، خانواده اکوئیده[2] و جنس اکوئوس که در زبان لاتین اکوئوس کابالوس[3] خوانده می‌شود (1). جمعیت اسب‌های آزاد و وحشی در آفریقا آسیا، استرالیا، اروپا، آمریکای شمالی و جنوبی و در برخی جزایر اقیانوسی وجود دارد (2). شواهد باستان‌شناسی و تجزیه‌وتحلیل رنگ‌های بدن اسب نشان می‌دهد که اولین اسب‌ها در استپ‌های اوراسیا، بین هزاره پنجم و چهارم قبل از میلاد مسیح بوده‌اند (3)؛ اخیراً مطالعات ریز ماهواره‌ای DNA نشان داده‌اند که منشأ اسب‌های اهلی در بخش غربی استپ اوراسیا بوده است (4). ازآنجایی‌که انسان‌ها خواستار اسب‌هایی پرتوان، زیبا و با استقامت بوده‌اند، بنابراین در طول تاریخ، همواره فشار انتخاب مصنوعی را بر اسب‌ها اعمال کرده‌اند (5). کشور ما باداشتن پتانسیل اقلیمی، اجتماعی و اقتصادی مناسب و بنا بر اقتضای وضع و هدف پرورش‌دهندگان، دارای اشکال گوناگون مدیریت پرورش اسب و اسب‌داری می‌باشد. اما متأسفانه عدم‌حمایت، ممنوعیت صادرات، بالابودن هزینه پرورش و نگهداری، ورود اسب‌های خارجی، نبود برنامه‌ریزی جامع و شناسنامه‌دار نشدن باعث شدت گرفتن انقراض اسب‌های اصیل ایرانی شده است. اسب‌ها را می‌توان به 4 گروه از نظر قامت به اسب کاری، اسب سبک، اسب مینیاتوری و نیز پونی‌ها گروه‌بندی نمود. همچنین اسب‌ها ازنظر دودمان به خون جوش (تروبرد، عرب، استاندارد برد و کوارتر)، خونگرم (بیشتر نژادها)، خونسرد (اسب‌های آرام کاری) و نیز اسبچه‌ها طبقه‌بندی می‌شوند (6, 7).

1-دانش آموخته کارشناسی ارشد گروه ژنتیک، واحد تبریز، دانشگاه آزاد اسلامی، تبریز، ایران
2-استادیار گروه ژنتیک، واحد تبریز، دانشگاه آزاد اسلامی، تبریز، ایران
3-دانشیار گروه علوم درمانگاهی دامپزشکی، واحدتبریز، دانشگاه آزاد اسلامی، تبریز، ایران
4-دانش آموخته دکترای حرفه ای دامپزشکی، واحدتبریز، دانشگاه آزاد اسلامی، تبریز، ایران
(*- نویسنده مسئول: (Email: M.mashayekhi@iaut.ac.ir
DOI:10.22067/ijasr.v11i4.72653
2- Equidae
3- Equus caballus

اخیراً گزارش‌شده است که از توالی‌های تکراری ساده[1] برای تشخیص دقیق والدین می‌توان استفاده کرد. این توالی‌های تکراری در سرتاسر ژنوم پراکنده‌اند و چندشکلی‌های بالایی را نشان می‌دهند که یکی پس از دیگری پشت سرهم قرارگرفته‌اند. همچنین این توالی، تقریباً در هر 3-5 کیلو جفت باز از ژنوم جانداران تکرار می‌شود و براساس تعداد نوکلئوتیدهایی که در هر تکرار قرار می‌گیرند، به‌صورت تری، تترا، پنتا، هگزا نوکلئوتیدی نام گذاری می‌شوند. این تکرارها در ژنوم گیاهان، بی‌مهرگان، حشرات، خزندگان، دوزیستان و پستانداران به فراوانی دیده می‌شوند. علاوه براین، این توالی‌ها درمجموع 20 درصد از ژنوم پستانداران را به خود اختصاص داده‌اند (8). در طول چند دهه گذشته، بررسی مارکرهای مولکولی، پلی‌مورفیسم یا چندشکلی‌هایی در سطح DNA، به‌عنوان یک روش بسیار مناسب در مطالعات ژنتیکی حیوانات استفاده‌شده‌اند. در بین مارکرهای مولکولی، میکروستلایت‌های DNA به‌طور وسیعی استفاده می‌شوند و دلیل استفاده از این مارکرها، سهولت کاربرد آن‌ها در روش‌هایی مثل PCR و نیز ژل الکتروفورز برای تعیین سایز آلل ها می‌باشد (9, 10).

امروزه استفاده از میکروستلایت‌ها در تکنیک‌های آنالیز DNA کاربرد روزافزونی پیداکرده است (11). بررسی‌های مولکولی DNA در مقایسه با روش‌های قدیمی، در تعیین نسب اسب‌ها مزایای ویژه‌ای دارد که از این جمله می‌توان، چندشکلی بسیار زیاد، هم‌بارز بودن، عدم تأثیر انتخاب طبیعی و مصنوعی بر آن‌ها، کم‌هزینه بودن و ژنوتیپ یابی آسان را نام برد. همچنین کاربردهای فراوانی برای این روش‌ها مانند، تجزیه‌وتحلیل پیوستگی، آزمون والدین، نقشه‌برداری ژنومی و مطالعات فیلوژنیک را نام برد (12). این ساختارهای ژنتیکی و روش‌های مولکولی از دقت بسیار بالایی برخوردار هستند، به‌طوری‌که در مورد نژادهای مختلف اسب می‌توان از آن‌ها برای شناخت نژادهای اصیل و برتر بهره برد. انجمن ژنتیک حیوانات (ISAG) که مرکز آن در کشور پرتغال واقع است (13). مطالعات زیادی بر روی اسب‌های تروبرد کره‌ای (14) و یا اسب‌های کرد (15) انجام‌گرفته است. هدف از این مطالعه استفاده از مارکرهای ASB17، LEX3، HMS1 و CA425 برای بررسی تنوع ژنتیکی در جمعیت اسب‌های عرب ایرانی است.

مواد و روش‌ها

پس از انتخاب اسب‌های نژاد عرب موردنظر در استان آذربایجان شرقی(بر اساس خصوصیات ظاهری)، خون‌گیری از 50 حیوان انجام گرفت. سپس از روش نمک اشباع (16) برای استخراج DNA استفاده شد. پس از استخراج DNA جهت تعیین غلظت و بررسی نبود آلودگی در نمونه‌ها از نانودراپ استفاده شد. به‌منظور بررسی جایگاه‌های موردمطالعه از واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز استفاده شد بدین ترتیب که از 4 جفت آغازگر نشان‌دار شده استفاده شد که انتهای ´5 پیشرو آن‌ها با رنگ فلورسانس HEX نشان‌دار شده بود (جدول 1).

سپس PCR با 12/5 میکرولیتر مسترمیکس و 4 میکرولیتر مجموع پرایمرها و یک میکرولیتر DNA و درنهایت با حجم نهایی 25 میکرولیتر انجام شد. چرخه دمایی PCR که در هر 4 جفت یکسان بود در حالت مولتی‌پلکس به ترتیب در دماهای واسرشته اولیه در 95 درجه 5 دقیقه و 30 چرخه و واسرشته در 95 درجه 30 ثانیه و اتصال در 60 درجه 1 دقیقه و طویل شدن در 72 درجه 30 ثانیه و طویل شدن نهائی در 72 درجه 5 دقیقه انجام شد. محصولات PCR در دمای 20- درجه سانتی‌گراد نگهداری و طول قطعات توسط دستگاه الکتروفورز موئینه اندازه‌گیری شد. سپس توسط نرم‌افزار Genemapper(17) مورد آنالیز ژنتیکی قرارگرفته و با استفاده از اعداد به‌دست‌آمده، تعداد آلل‌ها و نیز هتروزیگوسیتی مشاهده‌شده و مورد انتظار و همچنین اختلاف هتروزیگوتی مشاهده شده و مورد انتظار توسط فرمول‌های زیر محاسبه گردید(18).

$$Pi = \frac{\sum Ni + (Nij)\frac{1}{2}}{N} \quad (1)$$

$$Ho = \sum Nij/N \quad (2)$$

$$H_e = 1 - \sum P_i^2 \quad (3)$$

که در فرمول های بالا N_i نشان دهنده تعداد آلل های هموزیگوت و N_{ij} نشان دهنده تعداد آلل های هتروزیگوت می باشد و همچنین N تعداد کل آلل ها را نشان می دهد. همچنین برای شاخص شانون که نشان‌دهنده میزان تنوع در یک جایگاه می‌باشد و شاخص PIC[2] که نشان‌دهنده میزان ارزش یک منطقه پلی‌مورف است، فراوانی آلل‌ها و هتروزیگوتی مشاهده‌شده و مورد انتظار با استفاده از فرمول‌های زیر به دست آمد که که در آن P_i فراوانی های آللی i امین آلل و P_j فراوانی آللی j امین آلل میباشد.(19)

$$H' = -\sum Pi\ LnPi \quad (4)$$

$$PIC = 1 - \sum_i^n pi - \sum_{i=1}^{n-1}\sum_{j=i+1}^{n} 2p_i^2\, 2p_j^2 \quad (5)$$

نتایج و بحث

نتایج مطالعه که بر اساس DNA استخراج شده از نمونه ها با غلظت حوالی200 نانو گرم بر میکرو لیتر و شاخص آلودگی 280/ 260 در حدود 1/8بود و همچنین در الکتروفورز جایگاه های مشخص شده خود را نیز نشان داد که در جایگاه ASB17، کوچک‌ترین آلل 88 جفت باز دارا می‌باشد و بزرگ‌ترین آلل مشاهده‌شده در این جمعیت 110 جفت باز طول دارد که مورد انتظار می‌باشد. فراوان‌ترین آلل در جمعیت نیز همان 110 جفت باز مشاهده شد که فراوانی آلل آن برابر

1-Simple Tandem Repeats (STR)

2- Polymorphism index content

0/46 است. برای جایگاه LEX3، کوچک‌ترین آلل 144 جفت باز مشاهده شد که مطابق انتظار است. همچنین بزرگ‌ترین آلل مشاهده‌شده در این جمعیت 166 جفت باز است که بیشتر از محدوده مورد انتظار می‌باشد. فراوان‌ترین آلل مشاهده‌شده در جمعیت 160 جفت باز مشخص شد که فراوانی آلل آن برابر 0/32 است.

جدول 1- پرایمر های مورداستفاده با توالی‌های پیشرو و برگشت
Table 1- Primers used with forward and reverse sequences

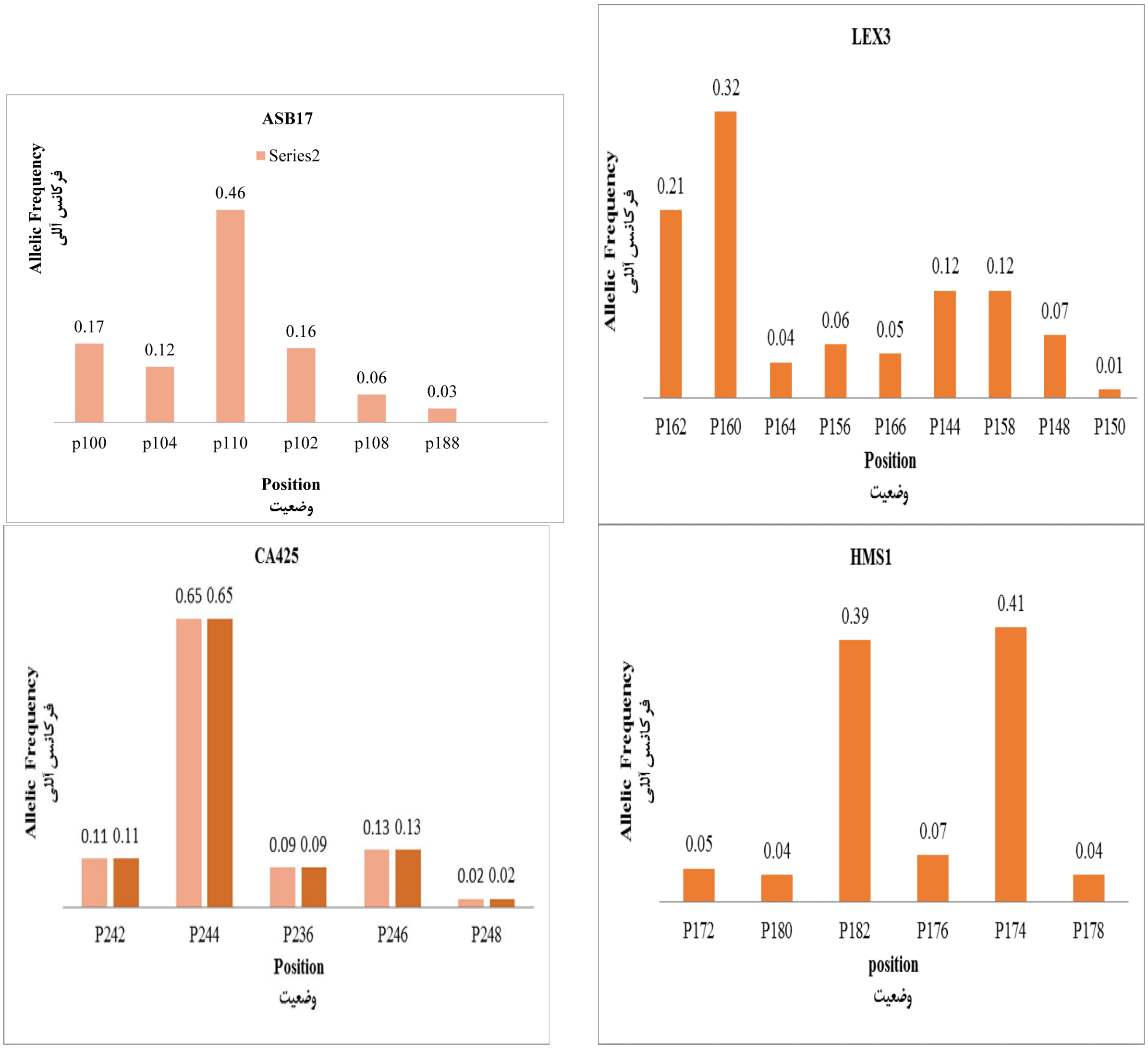
Locus جایگاه	ALLELE RANGE محدوده آللی	chromosome number	Forward primer توالی پرایمر پیشرو (5'→3')	Reverse primer توالی پرایمر برگشت (5'→3')
ASB17	87-129	2	ACCATTCAGGATCTCCACCG(HEX)	GAGGGCGGTACCTTTGTACC
LEX3	142-164	X	ACATCTAACCAGTGCTGAGACT(HEX)	GAAGGAAAAAAAGGAGGAAGAC
HMS1	170-186	15	CATCACTCTTCATGTCTGCTTGG(HEX)	TTGACATAAATGCTTATCCTATGGC
CA425	226-246	28	AGCTGCCTCGTTAATTCA(HEX)	CTCATGTCCGCTTGTCTC

همچنین در جایگاه HMS1 کوچک‌ترین آلل مشاهده‌شده در جمعیت 172 جفت باز می‌باشد که مطابق محدوده آللی مورد انتظار می‌باشد. بزرگ‌ترین آلل مشاهده‌شده در جمعیت 182 جفت باز است که در محدوده آللی مورد انتظار می‌باشد. فراوان‌ترین آلل در جمعیت مربوط به آلل 174 جفت بازی مشاهده شد که فراوانی آن 0/41 است و فراوانی این آلل در سایر نژادها نیز بالا است. برای جایگاه CA425، کوچک‌ترین سایز آللی برای این جایگاه در جمعیت 242 جفت باز مشاهده شد که کوچک‌تر از اندازه آللی مورد انتظار است؛ و فراوانی آن به‌طور قابل‌توجهی برابر 0/11 است. بزرگ‌ترین اندازه آللی مشاهده‌شده در این جایگاه 248 جفت باز می‌باشد که در بالاتر از محدوده آللی مورد انتظار قرارگرفته است که در شکل شماره 2 نمایش داده شده است.

با توجه به مطالعات قبلی که بر روی اسب‌های تروبرد کره‌ای انجام گرفت (14)، برای جایگاه ASB17 9 آلل گزارش شد که هتروزیگوتی آن برابر 0/762 بود. بنابراین ازآنجایی‌که در این مطالعه برای جایگاه ASB17 6 آلل در اسب‌های نژاد عرب مشاهده شد، این جایگاه می‌توان به‌عنوان یک مارکر مناسب برای تمایز نژاد عرب از نژادهای کره‌ای مناسب باشد.

نتایج حاصل از شاخص شانون و PIC نیز نشان داد که برای جایگاه LEX3 شاخص شانون بیشترین مقدار و جایگاه CA425کمترین مقدار محاسبه شد و واحد PIC برای جایگاه LEX3 بیشترین مقدار و نیز در جایگاه CA425 واحد PICکمترین مقدار محاسبه شد. همچنین اختلاف هتروزیگوتی مشاهده شده و مورد انتظار در جایگاه CA425 کمترین مقدار و جایگاه LEX3 بیشترین مقدار را دارا بود.

در جایگاه ASB17، 6 آلل برای این جایگاه در جمعیت اسب‌های عرب مشاهده گردید که PIC آن برابر 0/6803 بود. درحالی‌که در اسب‌های تروبرد کره‌ای بررسی‌شده توسط Lee و همکاران 9 آلل گزارش شد و هتروزیگوتی آن برابر 0/762 و PIC آن 0/710 بود (14). جایگاه LEX3، 9 آلل برای آن در جمعیت اسب‌های عرب مشاهده گردید و PIC آن 0/7895 گزارش شد، درصورتی‌که در اسب‌های تروبرد کره‌ای بررسی‌شده 8 آلل گزارش شد و هتروزیگوتی و واحد PIC نیز به ترتیب 0/756 و 0/691 بود. با توجه به ارقام بالا می‌توان نزدیک بودن این 2 گونه نژاد اسب را در این جایگاه استنباط کرد. همچنین در مطالعه‌ای که بر روی اسب‌های تروبرد کره‌ای صورت گرفت (14) برای جایگاه HMS1، 3 آلل دیده شد که هتروزیگوتی آن 0/62 و شاخص PIC نیز 0/547 می‌باشد که برای اسب‌های عرب 0/52 و 0/611 بدست آمد. درنهایت برای جایگاه CA425، در مطالعه‌ای که بر روی اسب‌های تروبرد کره‌ای صورت گرفت، 7 آلل دیده شد که هتروزیگوتی و PIC آن به ترتیب 0/513 و 0/553 می‌باشد. در مطالعه حاضر به‌طور متوسط برای جایگاه‌های مطالعه شده در جمعیت اسب‌های عرب 7/375 آلل مشاهده شد.



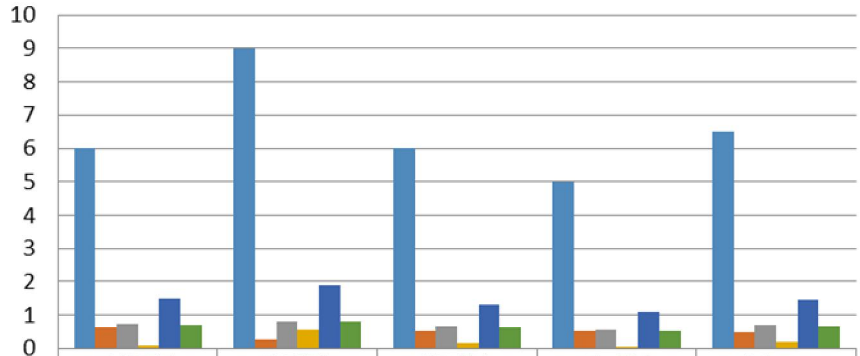
شکل 2- فرکانس آللی جایگاه‌های ASB17، LEX3، HMS1 و CA425

Figure 2- Allelic frequency chart for ASB17, LEX3, HMS1 and CA425

جدول 2- تعداد آلل، هتروزیگوتی مشاهده‌شده، هتروزیگوتی مورد انتظار برای جایگاه‌های ASB17، LEX3، HMS1 و CA425

Table 2- Number of alleles Observed heterozygosity and Expected heterozygosity for ASB17, LEX3, HMS1 and CA42

لوکوس locus	تعداد آلل Allele number	هتروزیگوسیتی مشاهده‌شده Observed heterozygosity	هتروزیگوسیتی مورد انتظار Expected heterozygosity	اختلاف H_O و H_e Difference of H_O and H_e
ASB17	6	0.62	0.715	0.095
LEX3	9	0.26	0.812	0.552
HMS1	6	0.52	0.669	0.149
CA425	5	0.52	0.546	0.023
متوسط	6.5	0.48	0.685	0.204



	ASB17	LEX3	HMS1	Ca425	Mean
Number of allelic	6	9	6	5	6.5
Ho	0.62	0.26	0.52	0.52	0.48
He	0.715	0.812	0.6692	0.5463	0.6856
He-Ho	0.095	0.552	0.1492	0.023	0.2048
Shanon index	1.4907	1.8804	1.3259	1.0829	1.4449
PIC	0.6803	0.7895	0.6112	0.5074	0.6471

شکل 3- مقایسه هتروزیگوتی، تعداد آلل جایگاه‌ها، شاخص‌های PIC و Shanon و میانگین آن‌ها برای جایگاه‌های ASB17، LEX3، HMS1 و CA425

Figure 3- Comparison of heterozygosity, number of alleles of sites, PIC and Shanon indices and their mean for ASB17, LEX3, HMS1 and CA425 Loci

نتیجه‌گیری کلی

با توجه به نتایج به‌دست‌آمده از آلل‌های مشاهده‌شده در میان جمعیت اسب‌های عرب، می‌توان گفت که تنوع ژنتیکی نسبتاً بالایی در میان این جمعیت وجود دارد. همچنین می‌توان استنباط کرد، برخی از آلل‌ها فراوانی بالایی در جمعیت اسب‌های عرب نسبت به دیگر نژادها دارند. به‌طورکلی چندین آلل در جمعیت اسب‌های عرب ایران با فراوانی‌های متفاوت مشاهده‌شده است که در بقیه نژادها وجود ندارد و می توان از مقایسه فراوانی برخی از آلل ها شاخصی را برای تفکیک نژادها جدا نمود.

منابع

1. 1. Blood, D. C., and V. P. Studdert. 1988. Baillière's comprehensive veterinary dictionary. Publisher of book: Baillière Tindall. PP 1123.
2. Wilson, D. E., and D. M. Reeder. 2005. Mammal species of the world: a taxonomic and geographic reference. Journal of Mammalogy, 88 (3): 824–830.
3. Anthony, D. W., and D. R. Brown. 2003. Eneolithic horse rituals and riding in the steppes: new evidence. Publisher book: McDonald Institute for Archaeological Research, pp 55-68.
4. Warmuth, V., A. Eriksson., M. A. Bower., G. Barker., E. Barrett., B. K. Hanks., S. Li., D. Lomitashvili., M. Ochir-Goryaeva., and G. V. Sizonov. 2012. Reconstructing the origin and spread of horse domestication in the Eurasian steppe. Proceedings of the National Academy of Sciences, 8202-8206.
5. Bennett, D., R.S. Hoffmann. 1999. Equus caballus Linnaeus, 1758 Horse. Mammalian Species, 1: pp 73.
6. Schuurman, N. 2017. The Transnational Image of the Spanish Horse in the Leisure Horse Trade. Equestrian Cultures in Global and Local Contexts, Springer. 119-129.
7. Mahrous, K.F., H.I. Shafey, E.A. Balabel, O.E. Othman. 2017. Genetic Biodiversity analysis of two Mitochondrial genes in Arabian and Thoroughbred Horses. Biosciences Biotechnology Research Asia, 14 (1): 25-32.

8. Dieringer, D., C. Schlötterer. 2003. Microsatellite analyser (MSA): a platform independent analysis tool for large microsatellite data sets. Molecular Ecology Notes, 3 (1): 167-169.
9. Georgescu, S.E., E. Condac, M. Rebedea, C. DumitruTesio, A. Dinischiotu, M. Costache. 2005. Arabian horses genotyping using seventeen microsatellites. Archiva Zootechnica, 8: 169-175.
10. Haghparast, N., M. Pakzad, P. Farzaneh, M. Ebrahimi, V. Hajihosseini, M. Tondar, H. Baharvand. 2014. Stem Cell Banking in Iran. Stem Cell Banking, Springer. 123-141.
11. Caetano, A.R., Y.-L. Shiue, L.A. Lyons, S.J. O'Brien, T.F. Laughlin, A.T. Bowling, J.D. Murray. 1999. A comparative gene map of the horse (Equus caballus). Genome Research, 9 (12): 1239-1249.
12. Kimpton, C., D. Fisher, S. Watson, M. Adams, A. Urquhart, J. Lygo, P. Gill. 1994. Evaluation of an automated DNA profiling system employing multiplex amplification of four tetrameric STR loci. International Journal of Legal Medicine, 106: 302-311.
13. Hirota, K.-i., H. Kakoi, H. Gawahara, T. Hasegawa, T. Tozaki. 2010. Construction and validation of parentage testing for thoroughbred horses by 53 single nucleotide polymorphisms. Journal of Veterinary Medical Science, 72 (6): 719-726.
14. Lee, S.-y., G.-j. Cho. 2006. Parentage testing of Thoroughbred horse in Korea using microsatellite DNA typing. Journal of Veterinary Science, 1 (7): 63-67.
15. Va, M.A., M.R. Mashayekhi, A. Hasan pour, M.R. Ayubi. 2017. Evaluation of the genetic diversity of Iranian Kurdish horses. Journal of Animal Science Researches, 27 (1): 95-102. (In Persian)
16. Aljanabi, S.M., I. Martinez. 1997. Universal and rapid salt-extraction of high quality genomic DNA for PCR-based techniques. Nucleic Acids Research, 25 (22): 4692-4693.
17. Voorrips, R.E. 2002. MapChart: software for the graphical presentation of linkage maps and QTLs. Journal of Heredity, 93 (1): 77-78.
18. Ala-Amjadi, M., H. Mehrabani Yeganeh, M. Sadeghi. 2017. Study of Genetic variation in Iranian Kurdish horse using microsatellite marker. Iranian Journal of Animal Science, 48 (3): 335-342. (In Persian)
19. Botstein, D., R.L. White, M. Skolnick, R.W. Davis. 1980. Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms. American Journal of Human Genetics, 32 (3): 314-331.

Iranian Journal of Animal Science Research
Vol. 11, No. 4, Winter 2020, p. 481-487

نشریه پژوهشهای علوم دامی ایران
جلد 11، شماره 4، زمستان 1398، ص. 487-481

Evaluation of the genetic diversity of Iranian Arabian horses

S Jabbari[1], MR Mashayekhi [2]*, A Hasanpour[3] and B Shirmohammadly[4]
Received: 12-05-2018
Accepted: 05-01-2019

Introduction: Horses (*Equus ferus caballus*) have always been alongside humans and played an important role in the formation of human civilization. Horses are vertebrates that belong to the Mammalia class, the Equidae family, and the Equus genus. There are free and wild horses in Africa, Asia, Australia, Europe, North and South America, and some oceanic islands. Because of the long-standing relationship with human civilization, horses are considered as companions, a symbol of power and predilection, human assistant, and rival of other animals. The origins of domesticated horses have always been interesting to humans, and studying them is very important. Archaeological evidence and analysis of the horse's body color indicate that the first horses were found in the Eurasian steppes between 5th and 4th millennia BC. Among the genetic studies, simple repeat sequencing can be implied. Random repetitive sequences are scattered throughout the genome and show high polymorphisms that are harbored consecutively and repeat almost every 3-5 Kbp of genome. These sequences comprise a total of 20% of the mammalian genome sequence.

Material and methods: Blood samples were obtained from Arabian horses and their DNAs extracted using salting out method. Extracted DNAs was run in an agarose gel and concentration and quality of DNAs were measured by Nano-drop. Four microsatellite markers were used that all have been recommended by International Society for Animal Genetics (ISAG) for testing the parentship. These markers included ASB17, LEX3, HMS1 and CA425. These loci were amplified by multiplex polymerase chain reaction (PCR) with fluorescent dye-labeled primers. PCR was performed using total volume of 25 ml for each sample and PCR products were separated and analyzed with capillary electrophoresis and the products were evaluated using GenMapper software.

Results and discussion: According to the results obtained, the smallest allele was found is 88 bp at the position of ASB17 locus, as expected. Moreover, the largest allele observed in this population was 110 bp. The most frequent allele observed in the population was also 110 bp, with an allele frequency of 0.46%. For LEX3, the smallest allele observed is 144 bp, which was expected. The largest allele observed in this population was 166 bp, which was more than expected range. The most frequent allele observed in the population was 160 bp, with an allele frequency of 0.32%. However, the smallest allele observed in the population at position HMS1 was 172 bp, which was expected to be within the normal allele frequency range. The largest allele observed in the population was 182 bp, which was expected to be in the allele range. The most abundant allele observed in the population was the 174 bp allele, with a frequency of 0.41%, which has a high prevalence in other races. For CA425, the smallest size of the allele observed for this site was in the population of 242 bp, which was smaller than the expected allele size and had a significant frequency of 0.11%. The largest allele size observed in this site was 248 bp, which was expected to be above the expected allele range. The largest allele observed in the population was 182 bp, which was expected to be in the allele range. The most abundant allele observed in the population was the 174 bp allele, with a frequency of 0.41%, which has a high prevalence in other races. For CA425, the smallest size of the allele observed for this site was in the population of 242 bp, which was smaller than the expected allele size and has a significant frequency of 0.11%. The largest allele size observed in this site was 248 bp, which was expected to be higher than the expected allele range.

Conclusion: According to the results obtained from the observed alleles in the studied population of Arabian horses, there is a relatively high genetic variation among this population. It can also be said that for some alleles, there is a high prevalence in the Arabian horse population, while they were not seen in other breeds of horses. In general, several alleles in the Arabian horse population of Iran have been observed with different frequencies that were not present in rest of the races, which implies to the differentiation of this race from horses of other races.

Keywords: Arab horse, genetic diversity, multiplex PCR, STR

1- MSc Graduated, Department of Genetic, Tabriz Branch, Islamic Azad University, Tabriz, Iran
2- Assistant professor, Department of Genetic, Tabriz Branch, Islamic Azad University, Tabriz, Iran
3- Associate professor, Department of Clinical Sciences, Tabriz Branch, Islamic Azad University, Tabriz, Iran
4- Doctor of Veterinary Medicine, Tabriz Branch, Islamic Azad University, Tabriz, Iran
(*-Corresponding Author Email: M.mashayekhi@iaut.ac.ir)
DOI:10.22067/ijasr.v11i4.72653